

BAB III

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimental. Termasuk ke dalam penelitian eksperimen karena terdapat manipulasi pada objek penelitian dan terdapat kontrol (Nazir, 2003). Adapun yang menjadi objek pada penelitian ini adalah limbah padat penyamakan kulit yang mengandung logam berat Kromium. Limbah padat tersebut diberi perlakuan fitoremediasi menggunakan tanaman *Alocasia macrorrhiza* dan penambahan sabut kelapa. Pengamatan morfologi tanaman *Alocasia macrorrhiza* dilakukan setiap hari. Pengamatan anatomi tanaman *Alocasia macrorrhiza* dilakukan sebelum dan setelah diberi perlakuan. Kandungan Kromium total pada limbah, sabut kelapa, dan tanaman *Alocasia macrorrhiza* diukur sebelum dan setelah diberi perlakuan. Klorofil total tanaman, biomassa tanaman, materi organik terlarut limbah padat dan tanah pun diukur. Selain itu, faktor abiotik seperti suhu, kelembaban, dan pH diukur setiap hari.

A. Desain Penelitian

Pada penelitian ini digunakan desain penelitian Rancangan Acak Lengkap (RAL). Terdapat kelompok perlakuan dan kontrol dengan faktor lingkungan yang homogen (Nazir, 2003). Terdapat 2 faktor kombinasi yaitu penambahan biomassa sabut kelapa dan biomassa tumbuhan. Biomassa sabut kelapa yang digunakan yaitu 75 g (A1), dan 150 g (A2) (Pinandari *et al.*, 2011). Biomassa tanaman uji (*Alocasia macrorrhiza*) yang digunakan yaitu 200 g (B1), dan 400 g (B2). Penelitian ini terdiri dari 4 perlakuan yaitu A1B1, A1B2, A2B1, dan A2B2. Perlakuan yang diberikan merupakan perpaduan antara biomassa sabut kelapa dan *Alocasia macrorrhiza*, karena penelitian ini bertujuan mencari kombinasi biomassa sabut kelapa dan *Alocasia macrorrhiza* yang paling efektif dalam menurunkan kadar logam Kromium pada limbah padat penyamakan kulit. Untuk kontrol digunakan tanaman *Alocasia macrorrhiza* 400 g, dan 200 g, namun tanpa sabut kelapa. Perbandingan limbah padat dan tanah yaitu 1:1 (Singh *et al.*, 2011). Sampel limbah padat yang digunakan yaitu 2 kg tiap embernya. Tanah yang

digunakan yang digunakan sebagai mediumnya yaitu sebanyak 2 kg tiap embernya.

Penelitian ini dilakukan pengulangan (replikasi) sebanyak enam kali sesuai dengan rumus menurut Gomez (1995) yaitu :

$$(t-1)(n-1) \geq 15$$

$$(4-1)(n-1) \geq 15$$

$$3(n-1) \geq 15$$

$$3n - 3 \geq 15$$

$$3n \geq 15 + 3$$

$$n \geq 18/3$$

$$n \geq 6$$

Keterangan :

t = perlakuan

r = jumlah replikasi

B. Populasi dan Sampel

Pada penelitian ini terdapat tiga populasi dan sampel, populasi pertama yaitu limbah padat penyamakan kulit yang diambil dari bak kontrol yang berlokasi di Kecamatan Sukaregang, Kabupaten Garut (Gambar 3.1). Populasi kedua adalah seluruh tanaman *Alocasia macrorrhiza*, dan populasi ketiga adalah seluruh sabut kelapa. Sampel dari populasi tersebut adalah sampel limbah padat sebanyak 100 gr, 100 gr tanaman *Alocasia macrorrhiza*, dan 75 gr sabut kelapa.



Gambar 3.1 Lokasi pengambilan limbah di Kec. Sukaregang, Kab. Garut
(Sumber : Dokumentasi pribadi, 2016)

C. Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan April – Mei 2016 di rumah kaca Kebun Botani Departemen Pendidikan Biologi, Fakultas Pendidikan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pendidikan Indonesia, laboratorium kimia Universitas Padjajaran, dan laboratorium kimia Puslitbang tekMIRA.

D. Prosedur Penelitian

Terdapat beberapa tahap yang dilakukan dalam penelitian ini. Secara garis besar tahapan tersebut terbagi ke dalam 2 kelompok yaitu tahap pra-penelitian dan penelitian.

1. Pra Penelitian

Tahapan awal pada penelitian ini, tahapan ini bertujuan untuk mempersiapkan penelitian agar tidak terjadi adanya kesalahan-kesalahan yang diakibatkan oleh adanya ketidaksiapan dari komponen penelitian. Tahap pra penelitian terdiri atas :

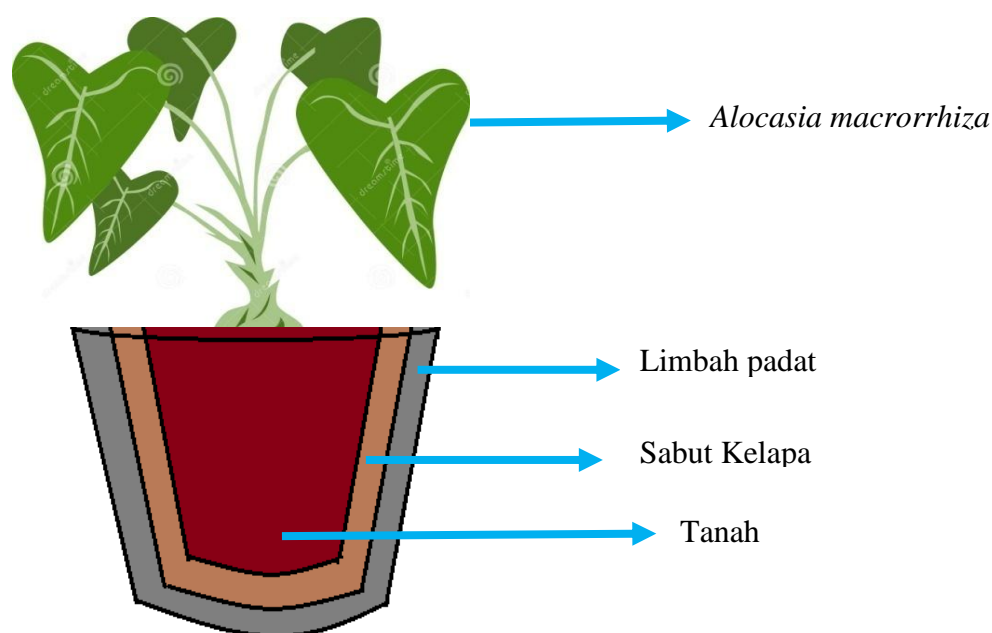
a. Persiapan Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah tempat atau wadah untuk menanam *Alocasia macrorrhiza* seperti ember dengan diameter 36 cm dan sekop. Bahan yang digunakan untuk penelitian diantaranya adalah sabut kelapa, *Alocasia macrorrhiza*, tanah, dan limbah padat penyamakan kulit. Limbah padat yang digunakan pada penelitian ini diambil dari bak kontrol di Kecamatan Sukaregang, Kabupaten Garut. Pemilihan tempat pengambilan limbah dilakukan berdasarkan letak bak kontrol ini letaknya berada di sekitar pabrik penyamakan kulit sehingga bisa dipastikan bahwa limbah padat tersebut berasal dari pabrik penyamakan kulit. Pengukuran faktor abiotik menggunakan termometer, hygrometer, dan soil tester.

b. Pembuatan media tanam

Sebelum dilakukan persiapan media tanam, terlebih dahulu disiapkan alat dan bahan yang digunakan selama kegiatan penelitian. Persiapan media tanam bertujuan untuk membuat dan menyiapkan media tanam yang sesuai untuk tanaman yang akan digunakan selama penelitian. Media tanam adalah substrat tempat menempelnya tanaman uji. Media tanam ditempatkan pada ember plastik berdiameter 36 cm dan tinggi 40 cm, dengan perbandingan tanah

dan limbah padat yaitu 1:1 (2 kg:2 kg). Media tanam disiapkan dengan meletakkan limbah padat disekeliling dinding dan di dasar ember. Kemudian sabut kelapa ditumpuk diatas limbah, lalu tanah diletakkan paling dalam sebagai substrat dari tanaman fitoremediasi (Gambar 3.2). Desain media tanam tersebut dibuat berdasarkan keadaan dilapangan. Lahan yang tercemar limbah bisa dicangkul kemudian diisi dengan sabut, dan ditanami *Alocasia macrorrhiza*.



Gambar 3.2 Rancangan penanaman untuk penelitian

c. Optimasi

Optimasi konsentrasi limbah ini dilakukan selama dua minggu. Hal ini dilakukan dengan tujuan untuk mencari pada konsentrasi limbah mana tanaman mampu hidup secara optimal. Berdasarkan hasil optimasi konsentrasi limbah tersebut, konsentrasi limbah 100 % tidak menunjukkan adanya kematian tanaman uji. Sehingga konsentrasi yang digunakan pada proses penelitian ini adalah konsentrasi 100%. Biomassa tanaman *Alocasia macrorrhiza* yang digunakan saat optimasi yaitu 100 g, 200 g, dan 400 gr. Tanaman dengan biomassa 200 g, dan 400 g tumbuh normal, sedangkan tanaman dengan biomassa 100 gr layu kemudian mati. Sehingga biomassa tanaman yang

digunakan dalam penelitian ini yaitu 200 g dan 400 g. Tanaman yang digunakan selama tahap optimasi tidak digunakan untuk tahap penelitian.

d. Aklimatisasi tanaman

Tanaman uji disiapkan dan dipilih dengan kriteria yang telah ditetapkan. Pada penelitian ini digunakan satu jenis tanaman yaitu *Alocasia macrorrhiza*. Tanaman yang dipilih adalah tanaman yang belum mengalami fase generatif/dewasa, yaitu tanaman yang belum memasuki tahap perbungaan. Pemilihan tanaman ini berdasarkan syarat dari tumbuhan yang memenuhi kriteria untuk digunakan sebagai agen fitoremediasi, yaitu:

- 1) mudah beradaptasi dengan iklim lokasi remediasi
- 2) mudah ditangani dan didapatkan.
- 3) dipilih berdasarkan kajian mengenai jenis tanaman fitoremediasi

Aklimatisasi tanaman dilakukan di rumah kaca dengan cara penempatan tanaman uji (*Alocasia macrorrhiza*) pada ember yang berisi tanah selama 14 hari. Tanaman disiram air bila terlihat kering. Aklimatisasi bertujuan agar tanaman uji dipastikan dapat hidup dengan normal ketika diberi perlakuan dan telah melewati masa stress akibat dipindahkan pada substrat tumbuh yang baru, sehingga kondisi stress tersebut tidak akan muncul ketika diberi perlakuan dan tidak akan mengganggu pengamatan morfologis selama penelitian.

2. Penelitian

a. Pemberian perlakuan

Perlakuan dilakukan selama 15 hari dengan pengambilan sampel limbah padat setiap 3 hari sekali. Sedangkan sampling tanaman dan sabut kelapa dilakukan saat awal dan akhir masa perlakuan. Penyiraman dilakukan apabila kelembaban tanahnya rendah (<70%). Penyiraman biasanya tidak langsung pada tanah, melainkan pada sisi paling luar yaitu pada bagian limbah padatnya. Tujuannya agar logam Kromium yang berasal dari limbah padat ikut terbawa ke bagian sabut dan tanaman karena adanya daya serap dari akar tanaman saat kekurangan air. Pengukuran faktor abiotik dilakukan setiap hari.

b. Pengamatan morfologi

Pengamatan ini dilakukan setiap tiga hari selama masa perlakuan dengan melihat kondisi tanaman secara kualitatif seperti munculnya nekrosis dan

jumlah daun baru yang muncul. Pada akhir penelitian dilakukan pengukuran berat basah tanaman dari semua tanaman uji (Lu dan Huang, 2010).

c. Analisis kadar logam Kromium total pada tanaman *Alocasia macrorrhiza*, sabut kelapa, dan limbah padat.

1) Kromium total tanaman

Pengujian Kromium total tanaman dilakukan di Laboratorium Kimia Universitas Padjajaran menggunakan AAS (*Atomic Absorption Spectrophotometer*). Tanaman dipanaskan didalam oven suhu 80⁰ C hingga tanaman mencapai berat kering dan konstan. Setiap tanaman yang telah kering diabukan dalam furnace suhu 600⁰ C selama 8 jam. Setelah pengabuan tanaman didestruksi menggunakan HNO₃ pekat (65%) dan aquades 5 ml. setelah didestruksi dilakukan penguapan diatas heater hingga volume sampel 1 ml selanjutnya sampel ditambah aquades hingga tanda batas 25 ml sampel selanjutnya diukur menggunakan AAS.

2) Kromium total sabut kelapa

Pengujian Kromium total tanah dilakukan di Laboratorium kimia Universitas Padjajaran menggunakan AAS. Metode pengujian yang dilakukan sama dengan pengujian yang dilakukan pada pengujian Kromium total tanaman. Sampel sabut kelapa dikeringkan dalam oven suhu 80⁰ C selanjutnya dihaluskan dengan mortal dan disaring menggunakan sieve hingga ukuran kurang dari 0,1 mm. Hasil sieve sabut kelapa kemudian didestruksi dengan langkah yang sama pada destruksi tanaman.

3) Kromium total limbah padat

Pengujian Kromium total tanah dilakukan di Laboratorium kimia Puslitbang tekMIRA Bandung menggunakan AAS. Metode pengujian yang dilakukan sama dengan pengujian yang dilakukan pada pengujian Kromium total tanaman. Sampel limbah dikeringkan dalam oven suhu 80⁰ C selanjutnya dihaluskan dengan mortal dan disaring menggunakan sieve hingga ukuran kurang dari 0,1 mm. Hasil sieve tanah didestruksi dengan langkah yang sama pada destruksi tanaman.

d. Pengukuran faktor abiotik

Pengukuran parameter abiotik seperti suhu, kelembaban, dan pH, dilakukan setiap hari selama 14 hari perlakuan.

e. Pengukuran Klorofil total

Daun pada masing-masing perlakuan diukur kadar klorofil totalnya. Klorofil suatu tumbuhan dapat diekstraksi menggunakan alkohol atau aseton. Ekstrak klorofil tersebut kadarnya dapat ditentukan dengan spektrofotometer. Suatu zat yang berwarna, semakin pekat larutannya maka semakin banyak menyerap cahaya sehingga kelihatan semakin gelap. Prinsip kerja spektrofotometer yaitu adanya hubungan antara penyerapan cahaya dengan konsentrasi larutan. Pada spektrofotometer digunakan cahaya monokromatik untuk menentukan konsentrasi. Dalam pengukuran klorofil total digunakan 1 g daun yang masih segar kemudian dirajang kecil-kecil. Kemudian diekstrak menggunakan alkohol 95% sebanyak 10 ml dengan cara digerus. Pigmen klorofil daun yang larut seluruhnya ditandai dengan ampas yang berwarna putih. Ekstrak klorofil disaring dengan kertas saring, kemudian ditambahkan alkohol hingga 100 ml. Ekstrak klorofil dimasukkan ke dalam kuvet sebanyak 5 ml. Absorbansi diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 665 nm dan 649 nm (Maulid dan Laily, 2015). Terlebih dahulu kuvet blanko yang dimasukkan, selanjutnya kuvet yang berisi sampel klorofil. Kadar klorofil total dapat diukur dengan rumus berikut :

$$\text{Klorofil total (mg/l)} = 20,2 \text{ OD}_{649} + 6,02 \text{ OD}_{665}$$

Keterangan :

OD = Optica density

f. Pengukuran berat basah tanaman

Berat basahan tanaman dapat diketahui dengan cara menimbang tanaman *Alocasia macrorrhiza* menggunakan timbangan digital. Tanaman yang dihitung berat basahnya adalah tanaman sebelum diberi perlakuan dan setelah diberi perlakuan (hari ke-15).

g. Pengamatan Anatomi

Sebelum dan setelah diberi perlakuan, *Alocasia macrorrhiza* diamati anatomi daun dan batangnya. Daun *Alocasia macrorrhiza* bagian batangnya disayat secara melintang kemudian diamati menggunakan mikroskop.

3. Pasca Penelitian

a. Analisis Data

Analisis data menggunakan program *SPSS 16 for Windows*. Tahap pengujiannya pertama dilakukan uji homogenitas dengan *Test of Homogeneity of Variances (Levene Statistic)* setelah itu dilakukan uji normalitas menggunakan *Test of Normality (Kolmogorov-Smirnov)*. Data yang terdistribusi tidak normal dianalisis dengan uji non-parametrik *K-independent samples (Kruskal-Wallis H)*. Data yang berbeda signifikan dilanjutkan dengan diuji menggunakan *2 independent samples (Mann-Whitney)*.

E. Alur Penelitian

